

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

TADEUSZ STUDZIŃSKI, ANDRZEJ CZARNECKI, ANNA GŁUSZAK,
KRYSTYNA RADYMSKA-WAWRZYŃIAK

Zmiany stężenia insuliny w osoczu krwi obwodowej oraz wpływ przyjmowania pokarmu na insulinowe reakcje sekrecyjne we wczesnym okresie postnatalnym u cieląt*)

Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Liczne badania prowadzone w okresie pre- i postnatalnym wykazały, że zarówno u człowieka, jak i wielu gatunków zwierząt hormonem niezbędnym dla normalnego rozwoju i wzrostu jest insulina (1, 3, 16, 18). Wpływa ona pobudzająco na rozwój mięśni szkieletowych, uwalniania somatomedyn i insulinopodobnego czynnika wzrostu, które działając synergistycznie z insuliną warunkują ostateczny efekt wzrostowy (9, 11, 13, 17, 19, 20). Biorąc pod uwagę wielokierunkowość oddziaływań insuliny oraz brak doniesień dotyczących regulacji wydzielania tego hormonu w okresie postnatalnym u cieląt podjęto badania, których celem było określenie zmian jego stężenia w pierwszych dniach życia oraz zbadanie wpływu przyjmowania pokarmu na insulinowe reakcje sekrecyjne.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 57 cielętach rasy ncb w wieku od kilku godzin po urodzeniu do 8 dni życia postnatalnego. Podczas badań cielęta pozostawały w typowych warunkach hodowli wielkostatdnej. Tuż po porodzie były izolowane od matek i umieszczane w indywidualnych kojcach. Cielęta poiono z wiader mlekiem krów z tej samej obory w ilości 1—2 l na sztukę, trzykrotnie w ciągu doby, w godzinach 5.00, 12.00, 19.00. W okresach między posiłkami badane cielęta nie przyjmowały żadnych dodatkowych pokarmów.

Celem badań było określenie zmian stężenia insuliny w osoczu krwi w pierwszym tygodniu życia postnatalnego w warunkach naturalnego wzrostu napędu głodowego, w czasie 1 h przed karmieniem. W tym celu zbadano stężenie insuliny w 55 próbkach osocza uzyskanego z krwi pobranej na 60 minut (godz. 11.00) przed południowym karmieniem cieląt. W okresie tym prowadzono równocześnie badania podstawowych parametrów hematologicznych (Ht, Hb, liczba krwinek czerwonych i białych, obraz białokrwinkowy). Ponadto przeprowadzono badania zmian stężenia insuliny w osoczu krwi cieląt w ciągu doby. Krew do oznaczeń w tym kierunku pobierano na 60 minut przed każdym karmieniem — godz. 4.00, 11.00, 18.00. Badano także u 10 cieląt wpływ przyjęcia pokarmu (pojenie mlekiem z wiadra) na stężenie insuliny w osoczu krwi. Doświadczenie prowadzono przez 6 godzin po karmieniu południowym, między godz. 12.00 a 18.00, pobierając krew na 15 min. przed karmieniem (wartości kontrolne) i następnie w odstępach 30 minutowych.

Krew do badań pobierano przez punkcję żyły jarzmowej do probówek z heparyną. Stężenie insuliny w osoczu krwi określano metodą radioimmunologiczną,

wykorzystując zestawy RIA—INS MJ—96 produkcji OR i PI w Swierku. Oznaczenia hematologiczne wykonano rutynowymi metodami laboratoryjnymi. Wyniki badań poddano analizie statystycznej, obliczając wartości średnie i ich błędy standardowe. Istotność różnic badano stosując test t—Studenta.

Wyniki i omówienie

Zmiany parametrów hematologicznych w badanym okresie przedstawia tab. 1. Najwyższą wartość hematokrytową stwierdzono w pierwszej dobie życia cieląt (tab. 1). W kolejnych dniach wskaźnik ten uległ stopniowemu obniżeniu, osiągając najniższą wartość w 8 dniu życia. Podobnym zmianom ulegało stężenie hemoglobiny we krwi, której najwyższą wartość stwierdzono w 1 dniu życia, z następowym spadkiem stężenia do najniższej wartości w 8 dniu życia cieląt (tab. 1).

Liczba krwinek czerwonych wahała się w zakresie od 11,841 mln/ μ l do 8,988 mln/ μ l (tab. 1). Wyższe wartości występowały w początkowych dniach życia i wraz z wiekiem następował spadek ich liczby we krwi badanych cieląt (tab. 1). Liczba krwinek białych w okresie 8 dni życia postnatalnego cieląt leżała w zakresie od 10,1 tys./ μ l do 7,3 tys./ μ l. Tę najniższą wartość stwierdzono u cieląt 6-cio dniowych (tab. 1).

Stwierdzone tendencje zmian parametrów hematologicznych układu czerwonerwinkowego ukazują spadek badanych wartości w czasie od pierwszego do ósmego dnia życia postnatalnego cieląt i są zgodne z wynikami doniesień o neonatalnym uruchomieniu fizjologicznych mechanizmów funkcji oddechowych, przystosowanych do wyższych wartości ciśnienia tlenu, które prowadzą do zmniejszenia erytropoezy w tym okresie życia (10, 21).

W pierwszym tygodniu życia postnatalnego cieląt najwyższe stężenie insuliny w osoczu krwi stwierdzono w czasie pierwszych dni życia, a najniższe w 8 dniu (tab. 2).

Trzykrotne w ciągu doby badanie stężenia insuliny w osoczu krwi cieląt wykazało istnienie zróżnicowania sekrecji tego hormonu (tab. 3). Najniższe stężenie insuliny we krwi cieląt stwierdzono o godz. 4.00 rano, wyższe o godz. 11.00, zaś najwyższe o godz. 18.00 (tab. 3).

*) Praca wykonana w ramach Podprogramu CPHP 05.06.4.

Tab. 1. Zmiany parametrów hematologicznych u cieląt w rozwoju postnatalnym ($\bar{x} \pm s$)

Wiek (dni)	Ht	Hb (g%)	Krwinki czerwone (μl)	Krwinki białe (μl)	n		
<1	39,0	6,97	11,92	1,69	11413433 1403080	10100 1203	3
1	44,5	8,60	13,09	2,87	11583333 1459380	9526 2617	7
2	40,8	8,32	11,82	4,09	10234000 798730	8480 3333	7
3	39,3	5,59	11,84	2,92	10906000 125760	9855 1580	8
4	40,1	5,56	12,33	3,01	11841429 164988	8434 3468	7
5	37,8	6,15	11,24	2,55	8140000 104376	8211 3316	8
6	36,4	6,39	10,21	2,36	9948585 45587	7314 930	8
7	36,4	5,37	9,93	2,45	9144285 81949	8075 3459	7
8	35,3	5,05	8,66	1,79	8988333 87307	8717 2981	6

Tab. 2. Zmiany stężenia insuliny w osoczu krwi cieląt w okresie postnatalnym

Wiek (dni)	1	2	3	4	5	6	7	8	
insulina ($\mu\text{U/ml}$)	\bar{x}	7,8	7,6	7,0	5,4	6,3	7,6	6,8	5,4
	$\pm s$	3,41	4,37	3,31	2,49	2,83	3,81	5,24	3,13
	n	6	7	8	7	9	7	6	5

Objaśnienie: wartości przedstawiają średnie uzyskane z pomiarów o godz. 11.00 (1 h przed karmieniem).

Tab. 3. Zmiany stężenia insuliny w osoczu krwi cieląt w ciągu doby

Godzina	4 ⁰⁰	11 ⁰⁰	18 ⁰⁰	
insulina ($\mu\text{U/ml}$)	\bar{x}	4,88	6,43*	6,89*
	$\pm s$	2,98	3,28	3,03
	n	38	57	39

Objaśnienie: * — różnice istotne statystycznie ($p < 0,1$) w porównaniu do średniej z godz. 4.00.

Zmiany stężenia insuliny w różnych porach dnia wskazują na istnienie zróżnicowania insulinowych reakcji sekrecyjnych, których szczyt przypada na godziny pełnej aktywności metabolicznej i ruchowej zwierząt. Dobowe zmiany aktywności poszczególnych narządów i układów, w tym również wzrost metabolizmu i czynności motorycznych w czasie dnia wskazują na powiązanie z aktywnością sekrecyjną komórek beta trzustki. Twierdzenie takie jest tym bardziej prawdopodobne, że zarówno zewnątrz- jak i wewnątrzwydzielnicza funkcja trzustki jest zdeterminowana porą dnia przez prosty fakt większego pobudzenia przewodu pokarmowego (6, 7). Dowodem na to są wyniki własnych badań nad wpływem przyjęcia pokarmu na wzrost stężenia insuliny przekraczający aż trzykrotnie wartości wyjściowe w 90 minut po jedzeniu (tab. 4). Insulinowe reakcje sekrecyjne wywołane przyjęciem i trawieniem pokar-

Tab. 4. Wpływ karmienia (mleko, siara) na stężenia insuliny w surowicy krwi cieląt w okresie postnatalnym (n=10)

Czas (min)	-15	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	
insulina ($\mu\text{U/ml}$)	\bar{x}	6,4	9,4	14,6*	16,5*	12,7*	10,1	8,7	6,6	5,9	5,7	5,8	4,8	5,0
	$\pm s$	3,91	6,15	9,44	3,27	7,53	6,25	6,72	5,43	4,03	3,79	3,53	3,18	3,76

Objaśnienia: -- 15 — badanie 15 min. przed podaniem mleka * — różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) w porównaniu do średniej przed karmieniem (-15 min.).

Badania wpływu picia mleka na stężenie insuliny w osoczu krwi wykazały, że po karmieniu następował stopniowy wzrost stężenia hormonu w osoczu krwi, który osiągnął szczytową wartość w 90 minucie po przyjęciu pokarmu (tab. 4). Wkolejnych godzinach po karmieniu obserwowano postępujący spadek stężenia insuliny, które w 210 minucie osiągało wartości zbliżone do stężenia kontrolnego i utrzymywało się na tym poziomie do końca badania (tab. 4).

Wyższy poziom insuliny w 3 pierwszych dniach życia cieląt i jego następowe obniżanie się wraz z wiekiem potwierdzają obserwacje dokonane u jagniąt, u których pourodzeniowa hiperinsulinemia była jeszcze silniej wyrażona (10, 21).

mu są wynikiem skojarzonego oddziaływania składników pokarmowych, jak i zresorbowanych metabolitów ich trawienia, takich jak cukry i aminokwasy (1, 2, 4, 5, 10, 12, 21).

Należy podkreślić, że sekrecyjna odpowiedź insulinowa na wzrost stężenia glukozy jest już wyraźnie wykształcona w okresie życia płodowego przeżuwaczy (1, 2), lecz występuje z opóźnieniem w porównaniu do reakcji w okresie neonatalnym (1, 2). Stwierdzono ponadto, że komórki trzustki u tych zwierząt stają się wraz z wiekiem mniej wrażliwe na stężenie glukozy we krwi (14, 15), niemniej poziom tego cukru ma nadal znaczenie w regulacji wydzielania insuliny (1, 22).

Uzyskane przez nas wyniki nie pozwalają wprawdzie na dokładne określenie udziału fizjologicznych mechanizmów odpowiedzialnych

za pobudzenie insulinowych reakcji sekrecyjnych we wczesnym okresie postnatalnym u cieląt, ale wskazują na decydujący wpływ karmienia na jej stężenie osocze, jak również na najwyższe wartości w trzech pierwszych dniach po urodzeniu oraz zróżnicowanie w czasie doby.

Wnioski

1. W czasie 1. tygodnia życia postnatalnego cieląt liczba krwinek czerwonych, stężenie Hb, wartość Ht wykazują tendencję spadkową, osiągając najniższe wartości w 8 dniu.

2. W okresie 1. tygodnia życia postnatalnego cieląt najwyższe stężenie insuliny w osoczu krwi obwodowej występuje w czasie 3 pierwszych dni po urodzeniu, kiedy wartości wahają się od 7,8 $\mu\text{U/ml}$ do 7,0 $\mu\text{U/ml}$ z następnym ich spadkiem do 5,4 $\mu\text{U/ml}$ w 8 dniu życia.

3. 8 pierwszych dni życia postnatalnego cieląt charakteryzuje się dobowym zróżnicowaniem głodowych stężeń insuliny w osoczu krwi obwodowej z najniższymi wartościami o godz. 4.00 (śr. 4,88 $\mu\text{U/ml}$), wyższymi w południe (śr. 6,43 $\mu\text{U/ml}$) i najwyższymi o godz. 18.00 (śr. 6,89 $\mu\text{U/ml}$).

4. Karmienie cieląt mlekiem wyzwała insulinową reakcję sekrecyjną manifestującą się trzykrotnym wzrostem stężenia insuliny w osoczu krwi obwodowej z 6,4 $\mu\text{U/ml}$ do 16,5 $\mu\text{U/ml}$ w 90 min. od nakarmienia.

Piśmiennictwo

- Alexander D. P., Britton H. G., Cohen N. M., Nixon D. A., Parker R. A.: *Biol. Neonat.* 22, 99, 1973.
- Alexander D. P., Britton H. G., Mashiter K., Nixon D. A., Smith F. G.: *Biol. Neonat.* 15, 361, 1970.
- Bassett J. M.: *Aust. J. Biol. Sci.* 27, 157, 1974.
- Bassett J. M., Burks A. H., Pinches R. A.: *J. Develop. Physiol.* 5, 51, 1983.
- Bassett J. M., Madill D., Burks A. H., Pinches R. A.: *J. Develop. Physiol.* 4, 379, 1982.
- Bloom S. R., Edwards A. V.: *J. Physiol.* 253, 157, 1975.
- Bloom S. R., Edwards A. V., Vaughan N. J. A.: *J. Physiol.* 233, 457, 1973.
- Brenner K. V., Gürtler I., Grün E.: *Arch. exper. Vet. med.* 35, 211, 1981.
- Cheek D. B., Hold A. B., Hill D. E.: *Pediat. Res.* 5, 312, 1971.
- Czarnecki A.: *Annis Univ. Mariae Curie-Skłodowska, w druku.*
- Daughaday W. H., Phillips L. S., Mueller M. C.: *Endocrinology* 98, 1214, 1976.
- Fowder A. L.: *J. Endocrin.* 87, 113, 1980.
- Froesch E. R., Schmid Ch., Zangger I., Schoenle E., Eigenmann E., Zapf J.: *J. Anim. Sci.* 63, 57, 1986.
- Manus J. G., Boda J. M.: *Am. J. Physiol.* 212, 747, 1967.
- Manus J. G., Boda J. M.: *Am. J. Physiol.* 212, 756, 1967.
- Martin R. J., Ramsay T. G., Harris R. B. S.: *Domest. Anim. Endocrinol.* 1, 89, 1984.
- Müller L. L., Schlach D. S., Draznin B.: *Endocrinology* 108, 1265, 1981.
- Nowak J., Staszak B., Stebodziński A.: *Medycyna Wet.* 36, 693, 1980.
- Phillips L. S., Bajaj V. R., Fusco A. C., Matheson C. K.: *Diabetes* 32, 1117, 1983.
- Stevens E. V. J., Husbands D. R.: *Comp. Biochem. Physiol.* 81B, 1, 1985.
- Studzinski T., Gluszak A., Czarnecki A., Radymka-Wawrzyniak K.: *Materiały Sympozjum „Ontogeneza hormonalnych układów regulacyjnych”*, Rogów k/Warszawy 1988, s. 83.
- Trenkle A.: *J. Dairy Sci.* 55, 1200, 1972.

Студзинский Т., Чарнецкий А., Глушак А., Радымская-Вавжиняк К. — **Изменения концентрации инсулина в плазме периферической крови и влияние приема корма на инсулиновые секреторные реакции в ранний постнатальный период**

Исследования провели на 57 телятах нч-п породы, возрастом от нескольких часов после рождения до 8 дней постнатальной жизни. Во время исследования телёта оставались в типичных условиях крипностадного выращивания. Сразу же после рождения они изолировались от матерей и размещались в индивидуальных клетках. Телят поили из ведер молоком в количестве 1—2 л на голову, 3-кратно в сутки, в 5.00, 12.00 и 19.00. Цель исследований состояла в определении изменений концентрации инсулина в кровяной плазме на 1 неделе постнатальной жизни телят, а также в основных гематологических исследованиях. Отметим, что наивысшая концентрация инсулина появляется во время 3 первых дней после рождения, когда величины колеблются от 7,8 до 7,0 $\mu\text{U/ml}$ с последующим их понижением в очередные дни. Провели также исследования концентрации инсулина в кровяной плазме телят в суточном цикле, кровь для которых брали на 60 мин. перед каждым кормлением. Средняя концентрация гормона в крови телят в 4.00 была наименьшей и составляла 4,88 $\mu\text{U/ml}$. Высшие величины отметили в 11.00 в среднем 6,43 $\mu\text{U/ml}$ и наивысшие в 18.00, в среднем 6,89 $\mu\text{U/ml}$. Разницы между ними были существенны статистически ($p < 0,05$). Пищевое возбуждение телят, освобождаемое поением молоком вызывало инсулиновую секреторную реакцию выражающуюся в ок. 3-кратном росте концентрации гормона в плазме периферической крови от исходных величин в среднем 6,4 $\mu\text{U/ml}$ до 16,0 $\mu\text{U/ml}$ через 90 мин. после кормления. В очередные часы отметили прогрессирующее понижение концентрации инсулина, которая через 4 ч. после приема корма возвращалась к контрольным величинам.

Studzinski T., Czarnecki A., Gluszak A., Radymka-Wawrzyniak K. — **Peripheral blood plasma insulin concentration in the early postnatal life of calves and its relation to feeding**

Experiments were carried out on 57 calves of black-and-white lowland breed at the age from a few hours to 8 days. Directly after birth calves were isolated from their mothers and kept in individual boxes for the time of experimentation. Calves were fed with colostrum or milk 3 times a day at 5 am, 12 and 7 pm. The objective of the experiments was to define the postnatal changes in blood plasma insulin concentration and basic haematologic data in relation to feeding and fasting. The highest fasting insulin concentrations were found during the first 3 days of life with the mean values ranging from 7.8 to 7.0 $\mu\text{U/ml}$. In the following days insulin concentration decreased to the mean value of 5.4 $\mu\text{U/ml}$. When the mean fasting values of insulin in the plasma from separate times of the day were compared the lowest concentration was found at 4 am (4.88 $\mu\text{U/ml}$), higher at 11 am (6.43 $\mu\text{U/ml}$) and the highest at 6 pm (6.89 $\mu\text{U/ml}$). The differences between these mean fasting values were statistically significant ($p \leq 0.05$). Colostrum or milk intake stimulated insulin increase in the plasma to the level three times higher than the control values. The highest mean level at 90 min after feeding and averaged 16.5 $\mu\text{U/ml}$ in comparison to mean fasting level of 6.4 $\mu\text{U/ml}$ before feeding. Plasma insulin concentration than was decreasing reaching the control values in the 4th hour after feeding.

Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz Studziński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin